

UNIVERSITÉ DE LYON
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE N° 97

L'ÉTAT DE L'ACIDE URIQUE DANS L'URINE

FIXATION PAR LE NOIR ANIMAL

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION de PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 10 Juin 1924

PAR

Michel JOULIA

Docteur en Pharmacie

Pharmacien de première Classe

Licencié ès-Sciences

Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Lyon

Lauréat de l'Ecole de Médecine et de Pharmacie de Poitiers

Diplômé de Chimie agricole

né à CELLES-sur-BELLE (Deux-Sèvres) le 21 Février 1900



LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

Téléphone 63-56

1924

L'ÉTAT DE L'ACIDE URIQUE
DANS L'URINE

FIXATION PAR LE NOIR ANIMAL

L'ÉTAT DE L'ACIDE URIQUE DANS L'URINE

FIXATION PAR LE NOIR ANIMAL

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION de PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 10 Juin 1924

PAR

Michel JOULIA

Docteur en Pharmacie

Pharmacien de première Classe

Licencié ès-Sciences

Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Lyon

Lauréat de l'Ecole de Médecine et de Pharmacie de Poitiers

Diplômé de Chimie agricole

né à CELLES-sur-BELLE (Deux-Sèvres) le 24 Février 1900



LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

Téléphone 63-56

—
1924

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire..... MM. H. HUGOUNENQ
Doyen J. LEPINE.
Assesseur ROQUE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, CAZENEUVE, BEAUVISAGE,
LACASSAGNE, TESTUT, FLORENCE (A.), TEISSIER.

PROFESSEURS

Cliniques médicales.....	MM. BARD.
Cliniques chirurgicales.....	ROQUE.
Clinique obstétricale et Accouchements.....	TIXIER.
Clinique ophtalmologique.....	BERARD.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	COMMANDEUR.
Clinique neurologique et psychiatrique.....	ROLLET.
Clinique des maladies des enfants.....	NICOLAS.
Clinique des maladies des femmes.....	LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	WEILL.
Clinique des maladies des voies urinaires.....	VILLARD.
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie.....	LANNOIS.
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.....	ROCHET.
Chimie biologique et médicale.....	NOVE-JOSSERAN.
Chimie organique et Toxicologie.....	CLUZET.
Matière médicale et Botanique.....	HUGOUNENQ.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....	MOREL.
Anatomie.....	BRETIN.
Histologie.....	GUIART.
Physiologie.....	LATARJET.
Pathologie Interne.....	POLICARD.
Pathologie et Thérapeutiques générales.....	DOYON.
Anatomie pathologique.....	COLLET.
Chirurgie opératoire.....	MOURIQUAND.
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie.....	PAVIOT.
Médecine légale.....	X.
Hygiène.....	ARLOING (F.).
Thérapeutique, hydrologie et climatologie.....	Etienne MARTIN.
Pharmacologie.....	COURMONT (P.).
	PIC.
	X.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Pathologie externe.....	MM. VALLAS.
— — Propédeutique de gynécologie.....	CONDAMIN.
— — Chimie minérale.....	BARRAL.
— — Urologie.....	GAYET.

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Anatomie topographique.....	MM. PATEL.
Orthopédie.....	LAROYENNE.
Puériculture et hygiène de la première enfance.....	CHATIN.
Chirurgie expérimentale.....	LERICHE.
Stomatologie.....	TELLIER.

AGREGES

MM. NOGIER.	MM. COTTE.	MM. CORDIER (V.).	MM. MAZEL.
THEVENOT Léon.	DUROUX.	ROUBIER.	SANTY.
GARIN.	TRILLAT.	FAVRE.	DUNET.
SAVY.	SARVONAT.	BONNET.	CHALIER (André).
FROMENT.	FLORENCE (G.).	RHENTER.	CHALIER (Joseph).
THEVENOT (Lucien)	ROCHAIX.	LEULIER.	NOEL.
PIERY.			CORDIER (Pierre).

M. BAYLE, secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. HUGOUNENQ, président ; MOREL, assesseur ;
BARRAL et FLORENCE, agrégés.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR HUGOUNENQ

Professeur de Chimie médicale
Doyen honoraire de la Faculté de Médecine
Commandeur de la Légion d'Honneur

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ G. FLORENCE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. MOREL

Professeur de Chimie organique
Chevalier de la Légion d'Honneur

A MONSIEUR LE PROFESSEUR E. BARRAL

Professeur de Chimie minérale
Chevalier de la Légion d'Honneur

L'ÉTAT DE L'ACIDE URIQUE
DANS L'URINE
FIXATION PAR LE NOIR ANIMAL

Introduction.

« *Il n'y a pas de corps, en chimie organique, qui ait plus vivement attiré l'attention des chimistes et des physiologistes que l'acide urique* », disent Wömler et Liebig, au début du siècle dernier.

Depuis lors, les recherches nombreuses et ininterrompues dont ce corps fut l'objet de la part des savants, n'ont cessé de montrer quels intérêts présentent encore des acquisitions nouvelles, soit dans le domaine chimique, physiologique ou pathologique.

Avec les affections goutteuses, avec les urines dites « à sable urique », avec les anomalies de solubilité de cet acide et de sa précipitation, revient constamment le problème de l'acide urique et de son métabolisme.

Dans l'urine, milieu éminemment complexe, où voisinent en équilibre les déchets de molécules ayant accompli leur fonction vitale, l'acide urique possède des propriétés toutes spéciales, fort éloignées de celles dont il jouit lorsqu'on étudie ce corps à l'état pur.

Sa solubilité dans l'eau froide est approximativement 1 gr. pour 14.000.

Comment alors expliquer qu'un liquide biologique comme l'urine puisse en contenir des proportions relativement considérables sans le laisser précipiter ?

Comment expliquer que sa précipitation, dans certaines affections pathologiques, ne soit nullement fonction de sa concentration dans les milieux qui le contiennent : des cristaux apparaissant dans des urines pauvres en acide urique, tandis qu'aucune cristallisation n'a lieu dans des échantillons plus riches ?

A quoi rattacher la solubilité de ce corps et quel est l'agent qui empêche sa précipitation ?

C'est ce que nous nous sommes attachés à démontrer.

Mais, avant d'entreprendre ce travail, qui doit être la sanction de nos études, qu'il nous soit permis d'exprimer, ici, à notre Maître et Président de thèse, M. le Professeur Hugounenq, les sentiments de profond regret d'un élève qui va désormais se consacrer à l'exercice de sa profession. Depuis trois ans, il nous fit l'honneur de son laboratoire et nous avons pu, ainsi, aborder de près quelques-uns des grands problèmes biologiques que son enseignement magistral nous faisait entrevoir.

Toujours, nous avons trouvé, à côté de ce Maître bienveillant, l'appui de sa haute compétence et de sa méthode que notre inexpérience réclamait sans cesse. Comment saurions-nous oublier et ne pas regretter ?

Nous assurons ce Maître de nos sentiments de profond respect et de très vive reconnaissance.

A M. le Professeur Agrégé Florence, qui nous fit le plus aimable accueil pendant nos années d'études et nous initia aux recherches biologiques et toxicologiques, nous exprimons tous nos sentiments de gratitude.

M. le Professeur Morel et M. le Professeur Barral, en acceptant de faire partie de notre jury de thèse, nous donnent un nouveau témoignage de sympathie. Qu'ils trouvent ici l'assurance de nos sincères remerciements.

CHAPITRE PREMIER

Propriétés physiques de l'acide urique.

Nous n'insisterons pas sur les origines de l'acide urique. Nous savons aujourd'hui que les protéines ne constituent pas la source uratique. HORBACZEWSKI, ruinant l'opinion de LEHMANN, pour lequel l'acide urique n'était qu'« *un produit vers l'urée* » dans la dégradation protéique, a montré que la majeure partie de l'acide urique excrété provenait d'une désagrégation de la molécule nucléinique, et joint à l'appui de cette thèse des faits expérimentaux. Dans la suite de ce travail, nous aurons d'ailleurs l'occasion d'y faire appel.

Nous n'insisterons pas davantage sur les conquêtes de la chimie pure, depuis le jour où SCHEELE et BERGMANN isolaient l'acide urique, jusqu'aux brillantes recherches de FISCHER rattachant ce corps à la série purique.

Mais, avant d'entreprendre l'étude de la solubilité de l'acide urique dans l'urine, résumons les propriétés physiques de ce corps.

L'acide urique se présente sous l'aspect d'une poudre cristalline blanche, soyeuse même, lorsqu'il est à l'état de grande pureté. Sa forme cristalline est très variable, mais le type fondamental en est la table rhomboédrique.

Rarement pur, il retient presque toujours de la guanine, dont il est difficile de le débarrasser intégralement, même par les procédés de purification réputés les meilleurs (1). Il est sans odeur, ni saveur.

Il est insoluble dans l'éther, l'alcool, le chloroforme ; assez soluble dans la glycérine à chaud, dans les acides chlorhydrique et sulfurique concentrés. Il se dissout facilement dans les alcalis, les carbonates, les phosphates et acétates alcalins, formant avec eux des sels plus solubles que l'acide urique pur.

L'urotropine, la pipérazine, la lysidine, la diméthylpipérazine sont les meilleurs solvants.

Nous ne croyons pas inutile de publier le tableau de la solubilité des différents urates (Vicario).

<i>Urates minéraux</i>	à + 18°	à + 37°
Urate acide de sodium.....	0.088	0.172
— neutre —	1.695	2.806
Urate acide de potassium ..	0.150	0.290
— neutre — ..	2.320	2.553
Urate acide de lithine	0.258	0,276
— neutre —	1.505	2.055
Urate acide de calcium	0.172	0,205
— neutre —	0.070	0.065

(1) L. HUGOUNENQ. *Journal de Pharmacie et Chimie* 1901.

<i>Urates organiques</i>	à + 18°	à + 37°
Urate de propylamine	0.285	0.426
— éthylène-diamine	0.520	0.705
— urotropine	0.633	2.20
— pipérazine	2.223	2.27
— lysidine	4.195	5.663
— diméthyl-pipérazine	5.370	6.086

L'acide urique sec est de formule $C^5H^4N^4O^3$; mais lorsqu'on mélange une solution froide et très étendue d'urate alcalin avec un acide et qu'on abandonne le mélange dans un endroit froid, il se dépose un hydrate d'acide urique en cristaux dendritiques et renfermant $C^5H^4N^4O^3$, $2 H^2O$, lequel perd peu à peu son eau à la température ordinaire, et rapidement, par action de la chaleur.

Quant à l'eau, elle ne dissout l'acide urique que dans des proportions extrêmement faibles : une partie pour 14.000 d'eau froide à 10° environ ; une partie pour 1.800 à 1.900 d'eau bouillante. BLAREZ et DENIGÈS donnent, pour calculer la solubilité de l'acide urique aux diverses températures, une formule d'interpolation :

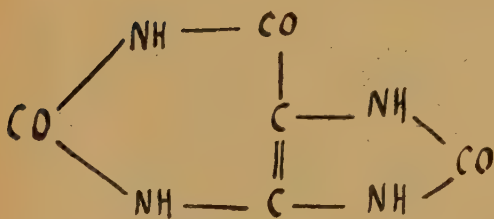
$$x = 2 + 0.15 + 0.020t + 0.000025t^2$$

dont les résultats répondent très rigoureusement aux données expérimentales.

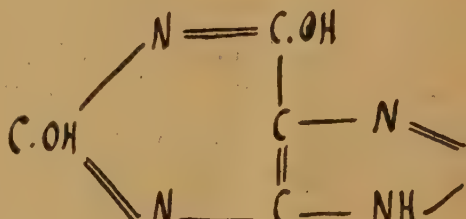
Voici quelques chiffres indiquant la solubilité de l'acide urique dans 100 centimètres cubes d'eau :

à 0°	2 mgr.
à 20°	6 mgr.
à 40°	12,2 mgr.
à 60°	23 mgr.
à 100°	62,5 mgr.

Il ne faudrait cependant pas tenir ces coefficients pour des constantes, et, particularité déjà très intéressante pour l'étude que nous nous sommes proposée, le coefficient de solubilité croît dans des proportions considérables avec l'agitation et la durée de contact. GUDZENT expliquerait cette variation par la transformation de la forme *lactame* de FISCHER en sa forme tautomère (*lactime*), les groupements CO étant transformés en groupements hydroxylés C.OH par migration d'un atome d'H voisin (1).



forme lactame.



forme lactime

(1) Cette instabilité en liqueur aqueuse se manifeste avec des phénomènes d'un autre ordre en liqueur alcaline. La constitution des corps obtenus a été élucidée par BILTZ et ROBL, en 1920, Récemment M. LÉON PLAUX (*C. R. Académie des Sciences*, 1923) étudie la « cinétique de l'oxydation spontanée de l'acide urique en liqueur alcaline ».

Les corps obtenus sont l'oxonate de K ou (allantoxonate) $\text{C}^4\text{H}^3\text{O}^3\text{N}^3\text{K}$, l'acide carbonique et l'ammoniaque.

Le rendement en oxonate, dans les expériences mises en œuvre, a été de 50 % environ du rendement théorique prévu :



Cette équation paraît représenter la réaction principale.

Après avoir énuméré les propriétés physiques de l'acide urique susceptibles de nous servir, revenons au problème que nous nous étions posé, à savoir : Comment expliquer la solubilité de l'acide urique dans l'urine ; autrement dit, sous quelle forme, à quel état et avec quels adjuvants le trouve-t-on dans ce milieu ?

Considérant la question d'une façon quelque peu grossière, nous sommes en droit de répondre :

1° *Une part de l'acide urique est solubilisé par les sels alcalins de l'urine.*

2° *Une autre part existe à l'état libre.*

Examinons séparément ces deux points de vue, et peuvent-ils constituer une explication satisfaisante ?

La quantité d'O absorbée est seulement de 1 at, 7 par molécule. Des produits d'oxydation avancée n'ont pu être trouvés.

L'élévation de température augmente la rapidité d'absorption d'O.

Etudiant l'influence de la KOH, l'auteur conclut :

L'urate monopotassique ne s'oxyde pas du tout ;
— dipotassique s'oxyde très lentement.

Avec 3 molécules de KOH, la réaction s'accélère très rapidement.

CHAPITRE II

L'acide urique existe-t-il dans l'urine à l'état d'urates ?

Chez un individu normal, soumis au régime mixte habituel, l'élimination de l'acide urique dans l'urine est de 0 gr. 40 à 0 gr. 50 par litre. Après ingestion d'aliments riches en purines, ou dans la leucocythémie, cette quantité peut s'élever à 2 et 3 grammes, sans que la précipitation ait lieu.

Doit-on conclure à l'action dissolvante des sels minéraux urinaires, ainsi qu'il semble logique, puisque le coefficient de solubilité de l'urate acide de Na est de 1 gr. 72 à 38°, celui de l'acide urique, 0,012 ? (Seul peut exister dans l'urine, le sel acide, de formule $C^5H^3N^4O^8$ M, l'urate neutre étant instable. Nous avons pris l'urate de Na comme exemple, parce qu'il semble représenter une solubilité intermédiaire entre l'urate de K et l'urate de NH^4 .)

Dans cette hypothèse, comment alors expliquer que des urines additionnées d'HCl ou d'un autre acide, ayant, par conséquent, tout leur acide urique à l'état libre, n'abandonnent ce corps qu'avec une *extrême lenteur*, en proportions toujours irrégulières et incomplètes, et parfois ne donnent aucune cristallisation ; alors que, ce même hydracide libère très rapidement et intégralement l'acide urique d'une solution d'urates alcalins.

EXPÉRIENCES. — Nous avons tenu à souligner cette irrégularité de précipitation par quelques vérifications expérimentales.

100 centimètres cubes d'urine normale sont additionnés de 4 centimètres cubes d'HCl et agités à la machine à secouer, pendant des durées croissantes ; les mêmes expériences ont été menées parallèlement sur l'urine débarrassée de ses phosphates et de sa mucine par l'azotate d'urane et l'acide acétique (phosphates et mucine étant considérés comme des solvants de l'acide urique).

CHOIX D'UNE MÉTHODE DE DOSAGE. — Le nombre considérable de méthodes données par les auteurs pour le dosage de l'acide urique montre suffisamment l'incertitude dans laquelle on se trouve pour doser ce corps. Ceci, joint à la composition toujours complexe et indéterminée du milieu urinaire, fait qu'aucune méthode volumétrique et peut-être même pondérale ne revêt un caractère de précision.

Jusqu'à présent, la méthode pondérale de SALKOWSKI-LUDWIG reste la méthode officielle. Mais, elle est

longue et délicate et, par suite, ne convient guère à la clinique ; nous lui avons substitué la méthode de RONCHÈSE : précipitation de l'acide urique à l'état d'urate d'ammoniaque et dosage ultérieur de l'acide urique libéré, par l'iode ; nous n'utilisons pas l'empois d'amidon comme indicateur, le terme de la réaction y gagnant en netteté, à notre avis.

Voici la technique, telle qu'elle est décrite dans le *Journal de Pharmacie et Chimie* de 1906, par l'auteur lui-même :

100 cc. d'urine sont additionnés de 15 cc. d'ammoniaque et de 15 cc. de chlorhydrate d'ammoniaque et le tout est laissé en contact une demi-heure.

Le précipité d'urate est recueilli sur un filtre et lavé avec la solution suivante :

Ammoniaque	150 cm ³
Chlorhydrate d'ammoniaque	150 cm ³
Eau Q. S. pour un litre.	

Ce précipité, mis en suspension dans 300 cm³ d'eau, est dissous par addition d'acide acétique dilué. On ajoute alors à la solution, soit un mélange de bicarbonate de potasse et de borax jusqu'à réaction franchement alcaline, soit 20 cm³ d'une solution saturée de ces deux sels. On verse ensuite, à l'aide d'une burette de Mohr, une solution normale d'iode jusqu'à ce qu'une décoloration moins rapide de l'iode indique qu'on approche de la fin de la réaction. A ce moment, on ajoute quelques centimètres cubes d'eau amidonnée et la liqueur d'iode est versée goutte à goutte jusqu'à coloration franchement bleue de tout le liquide. Il n'y a pas à tenir compte de la décoloration qui se produit toujours au bout de quelques instants et qui n'est pas due à l'acide urique.

Soit X le nombre de cm³ de solution N/10 d'iode versés :
 $(X \times 0,084) + 0 \text{ gr. } 01 = \text{Quantité d'acide urique par litre.}$

Les résultats que donnent ce procédé sont très suffisants pour ce que nous nous sommes proposés d'établir ; voici, d'ailleurs, donnés par SAUZÉAT, quelques chiffres comparés à ceux de la méthode SALKOWSKI-LUDWIG :

	Procédé Salkowski-Ludwig	Procédé Ronchère
<i>Urine I</i>	0.272	0.287
<i>Urine II</i> ..	0.349	0.323
<i>Urine III</i> ..	0.324	0.327

Nos expériences ont porté sur un individu soumis à un régime carné, riche en nucléoprotéides :

D'une part, on dose l'acide urique dans les urines fraîchement émises ;

D'autre part, dans les urines filtrées, après agitation et acidification ; la différence représentant l'acide urique précipité.

1° L'agitation a été poursuivie 20 minutes, à la machine à secouer :

Urines	Ac. urique avant l'agitation	(Urine add. de 4 cc. HCl) et agitée. Ac. urique précipité.	(Urine débarr. de P ₂ O ₅ + mucine) puis agitée. Ac. urique précipité.
1	0,764	0,214 soit 28,01 %	0,224 soit 29,4 %
2	0,843	0,153 soit 18,2 —	0,161 soit 19,1 —
3	0,532	0,114 soit 21,4 —	0,115 soit 21,6 —
4	0,907	0,252 soit 27,77 —	0,260 soit 28,7 —

2° L'agitation a été poursuivie 40 *minutes*, à la machine à secouer :

1	0,907	0,317 soit 34,95 %	0,326 soit 36 %
2	0,672	0,352 soit 52,95 —	0,355 soit 52,9 —
3	0,732	0,173 soit 23,6 —	0,251 soit 34,3 —
4	0,546	0,166 soit 30,5 —	0,191 soit 35 —

3° L'agitation a été poursuivie pendant *un heure* :

1	0,913	0,604 soit 62,24 %	Les dosages n'ont pas été faits dans l'urine débar. de P ² O ⁵ et de la mucine.
2	0,815	0,148 soit 18,2 —	
3	0,940	0,423 soit 45 —	

4° L'agitation a été poursuivie pendant *deux heures* :

1	0,882	0,134 soit 15,19 %	—
2	0,824	0,350 soit 42,5 —	

5° L'agitation a été poursuivie pendant *trois heures* :

1	0,715	0,386 soit 54,76 %	—
2	0,632	0,151 soit 24 —	

Dans notre série d'expériences, une fraction de l'acide urique a été, seule, précipitée. Or, rien de semblable ne se passe dans une solution d'urates alcalins où un acide fort, comme l'acide chlorhydrique, déplace immédiatement tout l'acide urique. Nous remarquons cependant que la précipitation augmente très nettement dans les débuts de l'agitation ; elle paraît *n'être soumise à aucune loi dans la suite*. Elle s'explique par la mise en liberté de l'acide urique des urates, lequel peut agir ensuite comme germe cristallin dans une solution sursaturée et ainsi produire la cristallisation d'une quantité variable d'acide urique déjà libre à l'émission.

Ces conclusions sont d'ailleurs confirmées par le peu de valeur accordée par les auteurs à la première méthode en date de dosage de l'acide urique : la méthode de HEINTZ (*précipitation de l'acide urique par HCl, et pesée du précipité*) :

Voici des résultats publiés par DEROIDE, dans sa thèse de doctorat en médecine :

	Salkowski Ludwig	Heintz	Différence	Filtrat et Eaux de lavage	Coefficient à faire intervenir pour 100 cc.
1	0,100	0,080	0,020	250	8
2	0,074	0,0563	0,0177	250	7
3	0,120	0,079	0,041	250	16,4
4	0,060	0,0355	0,0245	250	9,4
5	0,038	Pas de dépôt	—		14 ?
6	0,078	Pas de dépôt	—		39 ?

En définitive, nous ne pouvons admettre que la totalité de l'acide urique soit à l'état de sels alcalins.

Encore, pourrait-on objecter : l'urine n'est pas un milieu exclusivement aqueux, et peut-être contient-elle des substances empêchant la précipitation. De quel droit mettre en parallèle une solution d'urate de Na et un liquide biologique riche en éléments les plus variés et où nous reconnaissons encore 25 % environ d'indosé urinaire ?

Il nous restait donc, pour faire admettre définitivement que l'acide urique ne peut exister à l'état de sel, à démontrer qu'en présence des constituants mi-

néraux de l'urine et au taux où ceux-ci s'y trouvent normalement, l'acide urique se dissout dans des proportions très inférieures à celles que nous rencontrons normalement. C'est ce qui ressort des expériences suivantes :

Le volume des solutions a été porté à 100 cc. par addition d'eau distillée.

Ont été dissous :

I. - 2 cc. $\text{PO}_4 \text{ Na H}_2$ à 10 % + ac. urique en excès (0,0493)	8 mgr. 4
II. - 4 cc. $\text{PO}_4 \text{ Na H}$ à 5 % + 0,065 ac. urique	0 gr. 065
II. - 4 cc. $\text{PO}_4 \text{ Na H}$ à 5 % + 10 cc. Na Cl à 10 % + 0,0594 ac. urique..	0 gr. 051
V. - 4 cc. $\text{PO}_4 \text{ Na H}$ à 5 % + 10 cc. Na Cl à 10 % + 5 cc. $\text{SO}_4 \text{ Na}_2$ à 5 % + 0,0614 ac. urique	0 gr. 046

De ces expériences, nous concluons :

Dans les conditions optima, *en milieu alcalin*, les ions basiques ne constituent pas un facteur suffisant de la solubilité. Or, l'urine est un milieu acide, où le phosphate monosodique remplace en grande partie le phosphate disodique de nos expériences précédentes, et où le coefficient de solubilité devrait s'abaisser au-dessous des résultats qui sont énoncés précédemment.

A ce propos, nous rappelons brièvement un récent procès-verbal de la Société de Chimie biologique, où M. GUILLAUMIN montre que, pour un *pH* urinaire donné, et connaissant la constante de dissociation propre à chacun des acides concourant à la détermination de l'acidité globale, on peut fixer la fraction des acides, d'une part, libre, d'autre part, unie aux bases.

On constate ainsi que, dans des conditions normales, les phosphates bibasiques existent toujours dans

l'urine, mais ne représentent qu'une *portion minime de l'acide phosphorique total éliminé en 24 heures* : 14 % environ, avec un régime végétarien, 3 % avec un régime carné pur.

Ceci confirme, une fois encore, que, dans l'urine, les sels alcalins ne peuvent être envisagés comme des agents solvants suffisants de l'acide urique présent dans ce milieu.

Il faut chercher ailleurs son état chimique et les facteurs de solubilité.

CHAPITRE III

L'acide urique existe-t-il dans l'urine à l'état d'acide urique libre ?

Avant d'envisager la possibilité de l'acide urique à l'état libre dans l'urine, il nous avait semblé plus logique de l'étudier à l'état de sel. Nous avons été amenés à donner la priorité à ce premier examen par la confrontation des coefficients de la solubilité des urates, d'une part, de l'acide urique, de l'autre, telle qu'elle ressort des tableaux publiés :

A 37°, 100 cc. d'eau dissolvent 0 gr. 172 urate acide de Na (Vicario).

A 40°, 100 cc. d'eau dissolvent 0 gr. 012 acide urique (Denigès)

et l'urine peut contenir jusqu'à 1 à 2 grammes d'acide urique sans le laisser précipiter !

L'acide urique ne peut-il donc exister à l'état libre dans l'urine ?

Il faut alors, et ceci fera l'objet de notre prochain chapitre, admettre des facteurs étrangers qui peuvent aider à la sursaturation ou bien s'opposer à la précipitation.

S'il en est ainsi, et si l'urine s'offre à nous comme un milieu riche en acide urique libre, mais où le coefficient de solubilité de ce dernier est largement dépassé, l'introduction de cristaux d'acide urique doit y provoquer les phénomènes d'ordre général que l'on observe lorsque, dans une solution sursaturée d'un corps, on projette des cristaux du même corps.

On sait, en effet, que cette addition agit comme germe cristallin et fait cesser la sursaturation.

Nous n'avons fait, d'ailleurs, que souligner de quelques vérifications personnelles les idées émises par KLEMPERER, à savoir que l'urine possède à l'état libre 47 à 88 % de son acide urique.

Mode opératoire. — Pour ce, nous avons dosé l'acide urique dans des urines physiologiques d'individus soumis à un régime normal, et cela sitôt l'émission, alors que la réaction est franchement acide et qu'aucune destruction urique consécutive à des fermentations, ne peut être soupçonnée. La méthode de dosage reste celle que nous avons déjà utilisée (méthode de RONCHÈSE).

Parallèlement, dans les mêmes urines, nous avons ajouté des cristaux d'acide urique pur, puis les liquides ont été soumis (à la machine à secouer) à un mouvement de bascule alternatif pendant des temps déterminés.

Enfin, pour prévenir des altérations, nos expériences ayant été faites à la température de + 15° à + 20°, nous avons ajouté, avant l'agitation, un petit cristal de thymol dans chacune des urines.

Après trois heures d'agitation, les résultats restent constants. On filtre les urines qui viennent d'être traitées et, sur une partie aliquote, de 100 centimètres cubes, dans nos expériences, nous avons à nouveau dosé l'acide urique : la différence entre les deux titrages correspondait à l'acide précipité et supposé être à l'état libre.

Urines	Ac. urique avant l'amorçage	Ac. urique ppté après amorçage et 3 heures d'agitation	Taux % d'ac. urique précipité
1	0,772	0,520	68,1 %
2	0,856	0,517	61,4 —
3	1,041	0,712	72,2 —
4	0,998	0,551	56,4 —
5	0,680	0,501	73,7 —
6	1,100	0,736	69,4 —
7	0,890	0,518	58,2 —
8	0,790	0,508	64,3 —
9	0,605	0,372	61,6 —
10	0,714	0,532	74,5 —
11	0,983	0,523	53,2 —
12	0,966	0,582	60,3 —

Des premières expériences de précipitation par agitation en présence d'HCl, nous ne pouvions conclure que la fraction précipitée représentait l'acide urique à l'état d'urates, sous prétexte que l'acide chlorhydrique a déplacé l'acide urique des urates, comme il l'aurait fait vis-à-vis d'un sel d'acide faible.

Ainsi que nous l'avons dit, l'acide urique libéré par action de l'acide fort peut, dans la suite, agir comme centre de cristallisation et nous retombons sur les expériences ci-dessus : précipitation de l'acide urique en présence d'un germe cristallin. Toutefois, l'adjonction d'un hydracide aussi fort que l'acide chlorhydrique modifie suffisamment les conditions physico-chimiques du milieu, pour que nous ne nous attendions à retrouver un certain parallélisme dans ces deux séries d'expériences. Sans quoi, ne serions-nous pas en droit de conclure que l'acide urique précipité par agitation et addition d'HCl représente la somme de l'acide urique libre et de l'acide urique des urates. Les résultats obtenus sont à l'encontre de ce raisonnement.

Au contraire, dans les expériences de précipitation par agitation et amorçage, où aucun agent chimique violent n'a été introduit, et par conséquent où il est impossible de concevoir des actions chimiques, nous sommes obligés de conclure :

50 à 70 % environ de l'acide urique (la fraction précipitée) existe à l'état libre ou à un état très voisin de l'état libre.

Et déjà, il nous est possible d'envisager la question d'un peu plus près, sans cependant y apporter une solution définitive. Nous allons cependant la préciser :

L'acide urique préexiste dans l'urine et, sans doute, dans de nombreux liquides biologiques, à l'état libre ou à un état voisin de l'état libre, à des doses beau-

coup plus élevées que ne permet de le supposer son coefficient de solubilité propre.

A quoi doit-il d'échapper à la précipitation dans des humeurs qui en sont surchargées, ou bien, prenant la question à rebours, à quoi faut-il attribuer cette tendance à créer les concrétions uratiques du tophus, à quoi rattacher cette dyscrasie toute spéciale aux malades enclins à faire du sable urique ?

Il nous faut donc admettre dans l'urine des agents qui, soit *physiques*, soit *chimiques*, viennent accroître la solubilité de cet élément :

1° D'une part, *la présence de colloïdes maintiendraient en état de précipitation imminente des quantités d'acide urique supérieures au coefficient normal de solubilité dans le milieu aqueux et salin offert par l'urine.*

2° D'autre part, *à la molécule urique s'adjoindrait une copule facilement dissociable, donnant lieu à un complexe plus soluble que l'acide urique lui-même.*

A la discussion de ces hypothèses, il nous sera permis, parce qu'elle s'y rattache, de joindre celle de l'influence de la matière colorante, laquelle, pour KLEMPERER, affecte l'aspect colloïdal (urochrome en particulier) et peut influencer la dissolution de l'acide urique.,

CHAPITRE IV

Les colloïdes et l'acide urique urinaire.

Propriétés d'absorption du noir animal à l'égard de l'acide urique.

A mesure qu'on progresse en chimie biologique, on perçoit quel rôle capital est dévolu à des corps qui, dans leur constitution chimique intime, ne présentent aucun caractère spécial et pourtant amorcent des actions moléculaires intenses.

Ces corps examinés, quant à leur état physique, présentent tous *l'aspect colloïdal*.

L'étude des colloïdes n'a guère franchi le stade embryonnaire, et nous n'en savons, malgré les progrès accomplis dans cet ordre d'idées, que peu de choses. Et, cependant, nous en attendons beaucoup : c'est que, partout où la vie existe, partout où les réactions sont puissantes, partout où les processus biologiques dépassent le domaine du laboratoire, on retrouve l'état colloïdal.

Nous n'avons pas, ici, à faire l'histoire des colloïdes, mais, devant des découvertes déjà si fertiles en résultats, n'était-on pas en droit de penser qu'en présence d'une anomalie aussi frappante que celle de la solubilité de l'acide urique dans le milieu urinaire, des substances douces de l'état physico-chimique que nous signalions plus haut, pouvaient avoir leur rôle.

Voici un colloïde minéral, par exemple l'or colloïdal obtenu par réduction. Qu'on ajoute à une pseudo-solution de ce corps un électrolyte comme le chlorure de sodium, et, tout de suite, se manifeste l'action réciproque des électrolytes vis-à-vis des colloïdes de suspension. La décharge électrique amène la floculation. Les granules d'abord de l'ordre des amicrons vont s'agglomérer, former des particules de plus en plus grosses, en même temps que cesse cette agitation perpétuelle des particules matérielles très petites en suspension dans un liquide et qu'on désigne sous le nom de mouvement brownien.

Si, maintenant, nous opérons non plus en solution aqueuse, mais albumineuse, c'est-à-dire en présence d'un *colloïde hydrophile* (ou colloïde d'émulsion), rien de semblable ne se passe. *L'addition d'un électrolyte ne provoque pas la floculation de l'or colloïdal.* Tout se passe, comme si le colloïde albumineux avait encerclé les particules ultra-microscopiques d'or, leur constituant ainsi une gaine protectrice, le mettant à l'abri de la décharge électrique. Notons, en passant, que ce pouvoir de protection est une propriété spécifique à chaque protéique et varie donc avec chacun d'eux (*indice d'or des protéiques*).

Ce que nous venons de dire à propos d'un colloïde comme l'or s'applique à des corps se présentant sous l'aspect de poudre fine : l'acide urique est du nombre.

BECHOHLD et ZIEGLER ont montré qu'un litre de sérum de bœuf dissout, à la température de 37° , 520 milligrammes d'acide urique, soit 580 milligrammes d'urate acide de Na (puisque ce corps prend naissance immédiatement au contact du carbonate de soude sanguin).

Comment admettre, si ce n'est par l'intervention du colloïde albumineux, qu'une telle quantité d'acide urique a été dissimulée ?

Nous empruntons à LAMBLING les conclusions que lui-même a émises sur l'acide urique et les colloïdes de l'urine :

« Pour ce qui regarde l'acide urique, remarquons
« que, dans une urine albumineuse, dans une solu-
« tion d'urate monosodique additionnés d'une solu-
« tion de peptone, de gomme arabique, de dextrine,
« d'amidon, de savon de soude, l'acide urique est
« beaucoup moins complètement précipité par un
« acide (par exemple, par addition de $\text{PO}'\text{NaH}^2$, qui
« agit comme tel), qu'en l'absence de ces colloïdes
« (Klemperer). Alors que la plupart des urines, forte-
« ment refroidies, laissent précipiter un mélange
« d'acide urique et d'urates (quadri-urates des au-
« teurs) ; les urines albumineuses, traitées de même,
« restent limpides.

« D'autre part, l'action de protection que l'urine
« normale exerce sur l'or colloïdal démontre dans
« cette humeur la présence de colloïdes. Enfin, d'in-

« téressantes recherches de LICHTWITZ, il ressort qu'on
« saisit un certain parallélisme entre l'aptitude des
« urines à maintenir dissous l'acide urique (et les
« urates) qu'elles contiennent, et leur pouvoir de
« protection plus ou moins accentué vis-à-vis de l'or
« colloïdal, c'est-à-dire leur richesse en colloïdes.
« Enfin, on sait notamment, par la médiocre valeur
« de l'ancien procédé de dosage de HEINTZ, combien
« est incomplète la précipitation de l'acide urique
« dans une urine acidifiée, même très fortement, alors
« que, dans une solution d'urate de sodium, elle est
« pratiquement totale. Or, il suffit d'acidifier une
« urine par de l'acide chlorhydrique jusqu'à virage
« au rouge Congo, pour que, quelques minutes d'agi-
« tation avec de la poudre de talc, en précipitent tota-
« lement l'acide urique (E. Lambling et Vallée). Le
« talc a-t-il agi sur les colloïdes urinaires en sa qua-
« lité de suspension colloïdale et a-t-il ainsi, en anni-
« hilant l'action dissolvante de ces corps, permis la
« rapide précipitation de l'acide urique libéré par
« l'acide ? Il est permis de le supposer. »

Il semblerait qu'avec des conclusions aussi précises et aussi logiques, puisqu'elles ont toutes pour base le fait expérimental, nous n'ayions pas à pousser plus loin nos recherches ; il suffirait d'admettre la présence dans l'urine de colloïdes favorisant la dissolution urique et s'opposant à la précipitation. Et pourtant, Lambling, traitant du problème de la solubilité de l'acide urique s'exprime en termes assez vagues :
« On ne peut encore que soupçonner une action favorisante des colloïdes urinaires, probablement aussi du phosphate disodique. »

Influence de la matière colorante.
Nouvelle propriété
du noir animal à l'égard de l'acide urique.

Nous avons tenu à poursuivre, dans cette voie, l'étude de la solubilité de l'acide urique et si nos recherches n'apportent une solution nouvelle, elles nous permettront du moins de signaler une propriété toute spéciale, que nous avons observée dans le cours de ce travail.

Nous savons qu'à l'état physiologique et par le simple fait du refroidissement, les urines concentrées et riches en phosphates abandonnent des urates rosés (uroérythrine) ; à l'état pathologique (urines à sable urique), ou sous l'influence d'agents chimiques, tels que l'acide chlorhydrique, l'acide acétique, etc., l'acide urique se dépose à l'état cristallin, mais toujours coloré (rouge scatolique).

Ce fait est d'ailleurs beaucoup plus général et lorsqu'on provoque, dans un système colloïdal coloré, la précipitation de l'acide urique, il entraîne avec lui le colloïde qu'il a pour ainsi dire adsorbé.

De cette simple constatation, il y a, en effet, matière à spéculation. C'est que, rejoignant KLEMPERER, pour lequel l'urochrome existe à l'état colloïdal, Albe Benoît va jusqu'à poser la nature colloïdale de l'acide urique : « L'adsorption de la phase solide d'un colloïde n'est-elle pas l'apanage des colloïdes eux-mêmes ».

mes ? » C'est ainsi que l'alumine et le sulfate de baryte, précipités sous la forme colloïdale, entraînent dans leur floculation la matière colorante en solution (laque).

POUR ALBE BENOÎT, une telle solution d'acide urique mise en présence d'une matière colorante de nature également colloïdale, formerait avec cette dernière un complexe qui, sous diverses influences, dont la plus nette est l'introduction d'ions H, serait détruit ; la phase insoluble ainsi produite entraînant dans sa floculation la phase solide adsorbée.

A cette façon de concevoir correspondraient deux états physiques de l'acide urique : l'un *stable*, l'état *floculé* ; l'autre *métastable*, celui sous lequel on le trouve dans l'urine et grâce auquel la solubilité de l'acide urique dans ce milieu serait considérablement accrue.

En définitive, nous retenons de ce qui précède une association plus ou moins lâche (entre l'acide urique et la matière colorante), dont la nature nous échappe. Telle est la conception de KLEMPERER et d'ALBE BENOÎT.

S'il en est vraiment ainsi, y a-t-il moyen de mettre ces faits en évidence ?

Nous avons pensé à l'action du *noir animal* et du *noir de sang* sur les matières colorantes et partant de là, il s'agissait de savoir si, dans cette action de rétention exclusivement physique, l'acide urique n'allait pas, lui aussi, s'associer à cette fixation. Cette fixation, si elle se fait simultanément, à l'égard des matières colorantes et de l'acide urique, ne viendrait-elle pas

en faveur d'une combinaison (matière colorante, acide urique).

Dans cette façon d'opérer, pas d'actions chimiques possibles, une simple action mécanique, qui a pour but l'isolement de la matière colorante. Que devient l'acide urique ?

Expériences. — Nous n'avions d'abord en vue qu'une détermination qualitative.

20 centimètres cubes d'urine sont complètement décolorés par le noir animal et dans le filtrat limpide on recherche l'acide urique. Pour ce, nous avons fait appel au réactif de MOREIGNE (1), l'acide phosphotungstique. On sait que ce réactif agit, en présence de carbonate de soude, en développant, au contact de l'acide urique, une splendide coloration bleu céleste due à la réduction de l'acide phosphotungstique, avec production d'oxyde de tungstène bleu. La réaction est très sensible et marche avec 1/100 mgr d'acide urique.

Or, l'addition à 2 centimètres cubes d'urine décolorée, de 3 centimètres cubes de soude à 20 % et de 2 centimètres cubes de réactif offrait une coloration à peine sensible.

Revenant sur ces premiers résultats, nous avons substitué le noir de sang au noir animal (2 gr. environ pour 40 centimètres cubes d'urine). Après dix minutes de trituration au mortier, même avec les

(1) Ce réactif, couramment désigné sous le nom de R. de Folin avait été déjà signalé en France, dès 1898, par Moreigne, dans le *Journal de Pharmacie et de Chimie*. « L'acide phosphotungstique, en présence d'acide urique et d'une liqueur alcaline, donne une coloration bleue ».

urines les plus colorées, nous avons toujours eu une rétention intégrale et simultanée de la matière colorante et de l'acide urique.

Examinée au colorimètre, la teinte bleu pâle de l'acide phospho-tungstique réduit, correspondait, dans le filtrat décoloré, à une teneur de quelques milligrammes par litre d'acide urique. Encore reste-t-il à démontrer la spécificité de ce réactif à l'égard de l'acide urique, surtout dans un milieu où les corps réducteurs abondent et où subsiste une partie de l'indosé urinaire ?

Nous devons évidemment repousser, à ce sujet, les opinions de RICHAUD et BIDOT, qui prétendent que la coloration bleue fournie par le réactif phospho-tungstique dans l'urine est imputable à un protosel de fer qu'elle renferme et qu'aucun des éléments normaux n'est susceptible de donner cette réaction ; et, s'appuyant sur ces données, E. STEINITZ affirme que la réaction de Folin a perdu toute valeur pour le dosage de l'acide urique dans l'urine.

GRIGANT a montré la spécificité du réactif phospho-tungstique. Seuls l'acide urique et l'alloxantine donnent avec lui une réaction positive, à l'exclusion des uréides, créatine et créatinine.

De toutes façons, même dans le cas le plus défavorable, celui où le réactif phospho-tungstique réagirait sur l'alloxantine, nous pouvons affirmer que le *filtrat décoloré* ne contient pas *au delà de quelques milligrammes d'acide urique par litre*. Ceci, d'ailleurs, n'est pas fait pour nous surprendre, puisque la solubilité de l'acide urique dans le milieu urinaire n'est pas nulle.

Ces premières constatations nous autorisaient à envisager une association acide urique-matière colorante. On suppose très bien qu'un corps jouissant de propriétés absorbantes puissantes, comme le noir de sang, puisse retenir totalement des matières colorantes, même une fraction de tel ou tel constituant, mais il y a loin de là à espérer, ainsi que nous l'avons vu, une *réten-tion intégrale*.

Ainsi, *sans l'intermédiaire d'aucun agent chimique, l'acide urique de l'urine peut, après une trituration en présence du noir de sang (de préférence au noir animal) être totalement éliminé. Cette propriété de réten-tion exclusive à l'égard de l'acide urique n'a jamais été signalée et pourra être utilisé dans de nombreux cas où l'acide urique constitue par sa présence une gêne.*

Nous reviendrons, à ce sujet, sur son emploi en chimie analytique et nous examinerons quel profit on en peut tirer pour une méthode de dosage.

Variations synchrones de l'acide urique et de la matière colorante à la suite de plusieurs traitements au noir animal.

Si, par ce qui précède, nous sommes amenés à ne pas condamner l'hypothèse de la solubilité de l'acide urique par la matière colorante, nous devons, au fur

et à mesure de la décoloration, assister à une diminution parallèle dans la liqueur de l'acide urique, d'une part, de la matière colorante d'autre part ; et, pour ce faire, au lieu de nous servir de noir de sang, nous avons employé le noir animal, dont les propriétés de rétention sont moins actives et nécessitent deux triturations successives, quelquefois trois, avant d'obtenir un filtrat incolore (3 à 4 gr. de noir pour 50 centimètres cubes d'urine).

En résumé, nous voulons savoir si, dans une urine ayant subi un premier traitement et présentant une coloration légère, l'acide urique sera absent ; d'autre part, si, dans une urine décolorée intégralement, mais n'ayant pas été mise au contact d'un excès de noir, l'acide urique échappera en proportions appréciables.

Expériences. — Les dosages ont porté sur 100 centimètres cubes d'urine normale.

L'acide urique est titré dans l'urine normale par la méthode de RONCHÈSE.

Le même acide est titré, dans l'urine décolorée ou en partie décolorée, par la méthode colorimétrique que nous allons décrire sommairement.

On sait que l'acide phospho-tungstique est réduit en liqueur alcaline par l'acide urique ; cette réaction est quantitative et atteint son maximum après quelques minutes. Dans le sang, nombreuses sont les méthodes qui utilisent cette réaction. Dans l'urine, THIERY estime que là encore la méthode colorimétrique peut être utilisée avec avantage, lorsque le vo-

lume des urines est insuffisant pour se prêter à un dosage volumétrique.

Nous ne l'avons pas adoptée, lorsqu'il s'est agi de doser des quantités importantes d'acide urique ; mais son emploi ne semble-t-il pas réservé à des urines qui, ayant déjà abandonné la majeure partie de leur acide urique sont susceptibles de n'en contenir que quelques centigrammes ; auquel cas, nous donnons la préférence à la méthode colorimétrique, bien qu'en elle-même elle soit entachée d'erreur (le coefficient personnel y jouant un rôle important).

Réactifs nécessaires.

- a) Réactif phospho-tungstique ;
- b) Solution de carbonate de soude à 20 % ;
- c) Solution étalon d'acide urique à 0,010 %, préparée à l'aide d'une solution de carbonate de lithine et d'une solution de sulfite de soude à 20 %.

Technique.

- | | |
|------------------------------------|--------|
| 1° Urine décolorée en partie | 2 cc. |
| Carbonate de soude à 20 % | 10 cc. |
| 2° Solution étalon | 2 cc. |
| Carbonate de soude à 20 % | 10 cc. |

On ajoute alors simultanément, dans l'un et l'autre mélange, 2 cc. de R. de Folin. Après un quart d'heure, on compare au colorimètre.

Voici nos résultats exprimant le taux d'acide urique par litre aux divers moments du traitement.

Nos	Urines titrées avant le trait ^t au noir animal (Ronchèse)	Urines en partie décolorées M. Colorimé- trique	Urines totale- ment décolorées M. Colorimé- trique
1	0,999	0,0084	0,003
2	1,010	0,016	0,004
3	0,815	0,013	0,0015
4	0,742	0,007	0,002

Des expériences ci-dessus, apparaît nettement le parallélisme que nous signalions : diminution des pigments urinaires, diminution du taux d'acide urique.

Pour appuyer ce qui précède et montrer quelle part active peuvent avoir les matières colorantes dans la solubilité urique, nous avons décoloré 100 centimètres cubes au noir de sang. (La trituration est toujours faite au mortier ; mais, pour faciliter la filtration, on essore à la trompe.) Désormais, nous pouvons admettre que l'acide urique est absent du filtrat. Dans ces conditions, si les matières colorantes ne jouent aucun rôle, on doit pouvoir, dans le liquide décoloré, *dissoudre une proportion assez considérable d'acide urique.*

Or, 80 milligrammes d'acide urique pur ont été ajoutés au liquide décoloré ; le tout est porté à l'étuve à 37° pendant une heure et agité pendant ce temps.

On laisse refroidir et on titre l'acide dissous. On a trouvé 0 gr. 0156. *Le noir de sang a supprimé les facteurs de la solubilité.*

De tout ce que nous venons de dire sur la matière colorante de l'urine et de l'acide urique, nous ne pouvons cependant conclure que les pigments urinaires soient les solvants de l'acide urique. La correspondance qui unit ces deux éléments et que nous avons retrouvée sans cesse au cours de cette étude est-elle un point d'appui suffisant pour en tirer des conclusions définitives ? Nous ne le croyons pas ; car lorsqu'on traite par le noir de sang ou le noir animal des solutions aqueuses d'urates, urates de K, de Na, de Li, de piperazine, de lysidine, elles abandonnent l'acide urique au décolorant, et, par ailleurs, les propriétés des noirs sont si intenses qu'il ne faut pas trouver surprenant qu'ils débarrassent l'urine de l'acide urique et des agents de sa solubilisation.

CHAPITRE V

L'acide urique à l'état de complexe.

Il reste désormais à examiner une dernière hypothèse : *l'acide urique à l'état complexe*.

L'acide urique ne peut être à l'état de sel alcalin et nous en savons les raisons.

Cet acide peut, à la rigueur, exister à l'état libre et se dissoudre à la faveur des matières colorantes de l'urine : aucune preuve n'en est cependant donnée.

Existe-t-il à un état voisin de l'état libre, par exemple sous la forme d'une uréide complexe, hydrolysable, facilement dissociable, plus soluble que l'acide urique ? Voilà l'opinion de quelques auteurs.

A la suite de travaux sur les urines à sable urique, RANGIER conclut : « Il serait logique d'admettre, dans ces urines, l'existence d'une forme spéciale de l'acide urique, une combinaison organique qui le dissout, mais qui, dans certains cas, constitue un édifice moléculaire essentiellement fragile. »

Dans le chapitre précédent, nous avons longuement discuté la question de l'influence des matières colorantes et nous ne reviendrons pas sur la possibilité d'une molécule organique acide urique-matière colorante.

Que, cette matière colorante ait vis-à-vis de l'acide urique uniquement une action de contact (action colloïdale) ou bien que la solubilité provienne du complexe organique précité, nous avons vu que, dans nos expériences précédentes, rien ne vient confirmer ou infirmer cette hypothèse.

Nous passerons en revue successivement les opinions de GOTO, de RANGIER, de MAILLARD ; nous exposerons ensuite quelques essais personnels. Mais, d'ores et déjà, nous pouvons affirmer que la preuve de l'existence d'un groupement associé à l'acide urique n'a pas été faite et que l'une ou l'autre de ces hypothèses ne recevra confirmation officielle que lorsque le groupement en question aura été isolé.

Opinion de Goto : L'acide urine est-il uni à l'acide thyminique ou encore combiné aux acides nucléiniques dont il est d'ailleurs un des produits indirects de désagrégation ?

L'auteur ne donne aucune démonstration de cet ordre par l'isolement de la molécule nucléinique. Il constate seulement les faits suivants :

Ces acides favorisent la dissolution de l'acide urique ;

Dans la précipitation à l'état de sel d'argent ou de sels ammoniacaux, le dosage n'est pas influencé par la présence des solvants ci-dessus indiqués.

Si, au contraire, on précipite par HCl ou CO_2 , la précipitation varie entre 50 et 97 %, et même, dans certains cas, il n'y a pas de précipitation.

Opinion de Rangier. — S'adressant aux urines physiologiques, l'auteur signale les irrégularités de précipitation de l'acide urique en présence d'un acide fort et compare l'action de l'acide chlorhydrique à une hydrolyse : « En chimie organique, en effet, les réactions de saponification, d'éthérification, d'hydrolyse, etc., sont le plus souvent longues et incomplètes. »

S'adressant à des urines pathologiques, au problème de la sédimentation de l'acide urique dans les urines à sable urique, l'auteur écrit : « Deux points attirent notre attention . l'acidité de l'urine dans cette précipitation ne semble pas jouer un rôle constant, la plupart des urines à sable n'ont pas une acidité exagérée, au moins consécutivement à la précipitation, et nous avons eu très souvent l'occasion de constater ce fait en apparence paradoxal. De plus, et c'est là un point particulièrement important, nous avons eu aussi très souvent l'occasion de constater que le taux de l'acide urique des urines à sable urique n'excédait pas, dans la majeure partie des cas considérés, celui des urines normales, et était souvent plus faible. *Il serait donc logique d'admettre dans ces urines l'existence d'une forme spéciale de l'acide urique, une combinaison*

« organique qui le dissout, mais qui, dans certains cas, constitue un édifice moléculaire essentiellement fragile. »

A l'appui de sa thèse, RANGIER donne une méthode de dosage où il utilise le procédé d'ARTHAUD et BUTE (1892), en le modifiant et en le rendant applicable à l'urine.

Le procédé est impeccable en solution aqueuse ; sitôt qu'on opère dans l'urine, les résultats de Ludwig sont rigoureusement les deux tiers de ceux de la méthode donnée par l'auteur, et Rangier conclut : « Tout se passe comme si, dans l'urine, l'acide urique ne se trouvait ni à l'état d'acide urique libre, ni à l'état de combinaison alcaline ou phosphatique, mais en combinaison organique sous forme d'uréide complexe. Le dédoublement de cette uréide donnerait, en présence de l'hyposulfite cuivreux, deux équivalents d'acide urique précipitable et un équivalent de substance solubilisante. »

Opinion de Maillard. — A la suite des recherches de Rangier, Maillard rappelle des observations publiées dans le *Journal de Physiologie et de Pathologie générales* des années 1908, 1909, 1910. Elles avaient pour but la recherche des causes déterminant certaines urines à laisser cristalliser du sable urique.

Les recherches portaient sur des adultes soumis au même régime alimentaire, et au même genre d'exercice physique. Les conclusions furent les suivantes :

1° La tendance à faire du sable urique est une caractéristique de l'individu, indépendante de l'alimentation et du genre de vie.

2° Les urines où se produit la cristallisation urique, toutes choses égales d'ailleurs, sont aussi les plus riches en acidité préexistante et en acidité titrable au formol (au moins dans ma série de déterminations).

N° des sujets	Noms	Acidité en H	NH ³	Acide urique
1	Bel	0,030	0,58	0,465
2	Bou	0,024	0,765	0,53
3	Cha	0,042	0,92	0,46
4	Cov	0,027	0,66	0,435
5	Lég	0,038	0,765	0,50
6	Mau	0,043	0,97	0,43
7	Ney	0,030	0,595	0,405
8	Nor	0,026	0,75	0,49
9	Rob	0,020	0,51	0,33
10	Roc	0,033	0,63	0,45

Et Maillard ajoute : « Ces observations s'expliqueraient le plus aisément du monde, s'il se trouvait que la mystérieuse copule fut un acide aminé, ou du moins une substance possédant aussi une fonction bloquable au formol et une fonction acide à la phtaléine du phénol. La cristallisation de l'acide urique supposant la dislocation préalable du complexe et la libération de la copule, s'accompagnerait, naturellement, d'une élévation des deux chiffres qui mesurent l'acidité avant et après formolisation. »

Il convient déjà de faire remarquer les divergences de vue de Rangier et de Maillard : si, en effet, tous les deux sont d'accord sur la présence dans l'urine d'une copule bloquée sur l'acide urique, le premier

n'ajoute rien *quant à la nature de la copule, mais nie l'importance de l'acidité* (du moins acidité à la phtaléine), le second *précise* quelque peu *quant à la nature du groupement associé, et fait nettement ressortir le caractère acide des urines à sable urique.*

Hypothèse d'un complexe :
Acide urique - Hydrates de carbone.

Apportant à ces conceptions nouvelles notre modeste contribution personnelle, nous avons pensé : si l'on considère l'acide urique endogène comme provenant de la désintégration des nucléines cellulaires, on peut concevoir le complexe urique sous l'aspect d'une combinaison :

Acide urique + hydrates de C.

Il se pourrait alors que, dans une destruction incomplète de la molécule nucléoprotéique, les termes que nous considérons jusqu'ici ultimes, n'aient pas été libérés et dans ces conditions, au lieu de nous trouver en présence d'acide urique, d'hydrate de carbone, d'acide phosphorique, c'est à une combinaison de deux de ces corps associés que nous aurions à faire.

Résumons donc par quel processus l'organisme libère ces éléments.

A la suite des travaux de KOSSEL, LEVÈNE, STENDEL et JACOBS, on admet la destruction de l'acide nucléique en fragments déjà moins complexes : les nucléotides. Généralement, au nombre de trois ou quatre, ces nucléotides associés se libèrent, et chacun d'eux affecte le schéma :

Reste phosphorique—noyau sucré—bases $\left\{ \begin{array}{l} \text{Purique.} \\ \text{Pyrimidique.} \end{array} \right.$

A leur tour, ainsi que l'ont montré AMBERG et JONES, chaque nucléotide résultant de la nucléine originelle va se scinder suivant deux façons différentes :

Soit qu'il subisse l'action des *phosphonucléases*, et nous obtenons :

- a) *L'acide phosphorique*, d'une part ;
- b) *Un complexe pentose-adénine* (par exemple), de l'autre, auquel on donne le nom de nucléoside.

Soit qu'il subisse l'action des *purines-nucléases*, et nous obtenons :

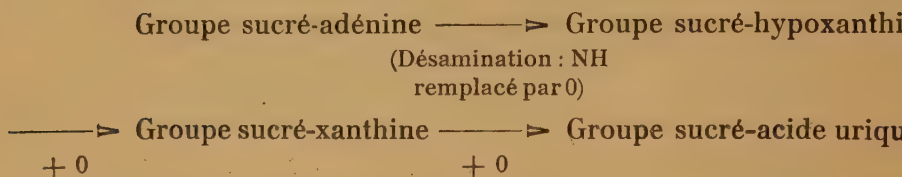
- a) *L'adénine*, d'une part ;
- b) *Un complexe acide phosphorique-pentose*, d'autre part.

Cette amputation de l'acide phosphorique, dans le premier cas, de l'adénine, dans le second, n'est pas une simple vue de l'esprit, car des corps du type pentose-adénine, et acide phosphorique-pentose ont été isolés. L'*inosine* (pentose-hypoxanthine) a été trouvée dans l'extrait de viande, et la *guanosine* (glycoside formé d'un pentose et de guanine) dans le pancréas (Leverre et Jacob).

Par ailleurs, la phytine de Posternak n'est autre que l'acide inosite-phosphorique.

La question se pose : *Ces complexes peuvent-ils résister à une nouvelle scission ?*

S'il en est ainsi, il faut admettre que le complexe groupe sucré-base purique a subi successivement l'action intramoléculaire des diastases désaminantes et oxydantes, et résisté à l'hydrolyse. Le mécanisme serait le suivant :



S'il en est ainsi, un tel complexe, groupe sucré-acide urique doit dialyser très difficilement, et la constatation d'un tel phénomène sera pour nous l'indice d'une combinaison. C'est sur des expériences de ce genre que va porter notre démonstration.

EXPÉRIENCES. — Dialyse d'une solution d'urate de Na pur en présence d'hydrates de C plus ou moins polymérisés et dialyse parallèle d'une urine normale.

Méthode de dosage. — Ici, les volumes des urines, au terme de la dialyse, ne permettent pas d'utiliser des méthodes qui toutes réclament 100 centimètres cubes de liquide. Nous avons cru bon de faire appel à une méthode colorimétrique, celle de Bénédict, publiée dans le *Journal Biological Chemistry*, de 1915. Nous la publions ici :

Un volume d'urine tel qu'il ne contienne que 0.7 à 1.3 mgr. d'acide urique est introduit dans un tube à centrifugeuse et dilué à 5 cc. environ, puis traité par 15 à 20 gouttes de solution argéntico-magnésienne. Le contenu du tube est remué avec un petit agitateur. On centrifuge pendant 1 à 2 minutes. On décante la liqueur surnageante aussi complètement que possible, en renversant le tube. Les bords intérieurs sont essorés avec une bande de papier buvard. Le précipité est alors traité par 2 gouttes de KCN à 5 % et la mixture magnésienne agitée parfaitement avec un petit agitateur pendant une demi-minute. On ajoute quelques gouttes d'eau (0.5 à 1 cc.) et la dissolution est à nouveau agitée.

On additionne de 2 cc. de réactif, on agite ; puis, on ajoute 10 cc. de Co^3Na^2 à 20 % ; après une demi-minute, on verse dans un vase de 50 cc. ; on lave le tube et on complète au trait de jauge avec H^2O distillée.

On compare au colorimètre avec une solution préparée simultanément (dans la solution étalon de Benedict 5 cc. = 1 milligramme d'acide urique). On part de 5 cc de solution qu'on traite par le R. de Folin et le carbonate de Na dans les mêmes conditions.

La détermination va le mieux sous une épaisseur de 15 milligrammes avec la solution étalon.

Réactifs nécessaires

- A. R. phospho-tungstique,
- B. Co^3Na^2 à 20 %,
- C. Lactate d'Ag à 3 % 70 cc.
Mixture magnésienne 30 cc.
Ammoniaque conc. 100 cc.

On filtre quelque temps après, la solution claire se conserve indéfiniment.

Mixture magnésienne :

17 gr. $5 \text{ SO}^4 (\text{NH}^4)^2$ crist.	} dans 100 gr. d'eau.
35 gr. NH^4Cl	

Ajouter 60 cc. NH^3 et diluer à 200 cc.

Ainsi que nous l'avons précédemment annoncé, nos dialyses ont porté sur les solutions suivantes :

I.

Urate de Na + (1 % urée + 1 ‰ PO₄ Na² H) = témoin.

— — — — — + anhydrosé : gomme arabique 1
— — — — — + hexoses + ou } glucose à... 1
— — — — — — condensés } glycogène à... 1
— — — — — — — — — amidon à... 1

II. — Urine normale.

100 cc. de liquide sont dialysés sur une surface
de 120 cm².

Chaque essai est additonné de thymol.

Durée de la dialyse à eau fluente (15°) :
72 heures.

Nous avons étudié chaque fois le coefficient de
dialyse

$$\frac{Q - q}{Q}$$

Q quantité d'acide urique en solution avant la
dialyse.

q quantité d'acide urique non dialysé.

	Au début		Ap. 72 heures		Concentration % en acide urique		Coeffi- cient de dialys $\frac{Q - q}{Q}$
	Etalon 5 cc.	Solution 5 cc.	Etalon 1cc	Solution 10 cc.	Début	Après 72 h.	
	cc.	cc.	cc.	cc.	mgr.	%	
Témoin : urate sodique.....	1,5	1,5	0,55	5,2	200	0,04	0,99
Urate sodique + gomme à 1 %	1,5	1,24	0,44	5	240	1,6	0,99
Urate de Na +	glucose à 1 %..	1,5	1,55	0,5	4,96	192	0,99
	glycogène à 1 %	1,5	1,5	0,5	5	200	0,99
	amidon à 1 %..	1,5	1,05	0,08	4,96	286	0,99
Urine normale	1,5	2cc1,32	3,5	2,42	566	3,5	0,98

En comparant les résultats obtenus avec, d'une part, la solution témoin, d'autre part le mélange urate de Na + hydrates de C., on conclut que, dans les conditions de l'expérience, les hydrates de carbone sont sans effet sur la dialyse ;

$$\text{la comparaison des résultats} \left\{ \begin{array}{l} \text{sol. pure d'ac. urique } \frac{Q - q}{Q} = 0,999 \\ \text{Urine normale..... } d^{\circ} = 0,98 \end{array} \right.$$

ne montre qu'un trop léger écart pour pouvoir admettre l'hypothèse d'un complexe adialysable.

Des expériences du même genre ont été faites sur le sérum sanguin, toujours dans le but d'isoler une combinaison adialysable :

Elles ont porté parallèlement sur une solution aqueuse d'urate de lithine à 1 milligr. %, une solution albumineuse d'urate de lithine à 1 %, et sur une dilution dans l'eau distillée de sérum sanguin.

La méthode de dosage utilisée est celle de Grigaut.

	Concentration % en acide urique	
	Début	Après 4 jours
Urate de lithine à 1 mgr. %.....	1 mgr.	0
2 grammes albumine sèche de l'œuf + 1 mgr. urate de lithine H ² O q. s. 100 cc.	1 mgr.	0
20 cc. Sérum + 80 cc. H ² O.....	0 mgr. 96	0

Si le complexe acide urique-hydrate de carbone préexiste dans le sérum, il est du moins dialysable.

Avant de clore cette discussion sur la nature de l'acide urique à l'état de *complexe*, nous voyons que si les faits expérimentaux nous inclinent tous vers cette conclusion, rien, jusqu'à présent, nous permet de conclure en ce sens; une telle affirmation ne pourra définitivement être faite que le jour où sera isolée et définie la mystérieuse copule en question.

CHAPITRE VI

Noir de sang. — Noir animal.

Leur action sur quelques constituants normaux de l'urine.

Abandonnant désormais le problème de la solubilité urique, nous terminerons ce travail par quelques considérations sur les propriétés d'absorption des « noirs » et nous avons pensé en retirer quelques profits.

Nous avons appris que l'urine mise au contact du noir de sang ou du noir animal, laisse à ceux-ci tout son acide urique.

L'*acide urique* peut-il être libéré du noir de sang ?
Les *bases xanthiques* sont-elles également fixées ?
Que devient la *créatinine* ?

Telles sont les questions auxquelles nous nous sommes efforcé de répondre.

1° *L'acide urique peut-il être libéré du noir de sang ?*

Nous savions quels avantages la récupération de la totalité de l'acide urique pouvait présenter. Mais, *à priori*, nous ne pouvions guère l'espérer; c'est qu'à l'intérieur des noirs, les actions sont si intenses, que pour en chasser l'acide urique, seuls des traitements violents peuvent aboutir, lesquels n'auraient rien moins comme résultats que la destruction du corps que nous voulons isoler.

Nous savions déjà que traitant par le noir des solutions d'urate de Na, de K, de L, de piperazine, de lysidine, les filtrats ne contenaient plus traces d'acide urique. Il semblait dès lors illusoire de traiter le noir, par un solvant usuel; et, de fait, nous n'avons, en ce sens, abouti à aucun résultat appréciable.

2° *Les bases xanthiques sont-elles également fixées?*

Si non, un dosage direct dans le filtrat devient possible. Il suffisait pour mettre ceci en évidence, d'utiliser la méthode de RONCHÈSE pour le dosage à l'acide urique seul, celle d'HAYCRAFT-DENIGÈS, pour le dosage global des corps puriques.

Si les corps xanthiques sont totalement absorbés par le noir de sang ou le noir animal, la méthode d'Haycraft-Denigès appliquée sur le filtrat doit nous amener à des résultats nuls.

Au cas où ces corps ne seraient pas touchés par le noir animal, en pratiquant sur l'urine normale :

D'une part, le *dosage des corps puriques et xanthiques*;

D'autre part, le *dosage de l'acide urique seul*.

La différence entre les deux résultats trouvés doit être le chiffre que nous donne la méthode de Haycraft-Denigès appliquée au filtrat décoloré.

Urines Nos	Haycraft Denigès Urine décolorée	Haycraft Denigès Ur. normale	Ronchèse Ur. normale
1	0		
2	0.01	1.659	1.117
3	0		
4	0		
5	0.01	1.113	0.882

Il ressort de ces examens que les bases xanthiques ont été retenues et, pas plus que pour l'acide urique, nous ne pouvons opérer le dosage direct de ces corps.

3° *Que devient la créatinine ?*

Nous avons été amenés à examiner quel sort pouvait avoir la créatinine et pour ce, il suffisait de faire un dosage avant et après le traitement par le noir.

La méthode utilisée a été celle de JAFFÉ, que nous donnons ici :

Si à 0,010 de créatinine en solution dans 10 cc. d'eau, on ajoute 15 cc. d'une solution d'acide picrique à 1,2 % et 5 cc. de Na OH caustique à 10 % et qu'on étende le tout à 500 cc., on obtient un liquide possédant la même coloration qu'une solution de $\text{Cr}^3 \text{O}^+ \text{K}^+$ renfermant 24 gr. 54 de sel par litre.

Dans un ballon jaugé de 500 cc., on verse successivement : 10 cc. d'urine, 15 cc. d'acide picrique à 1,2 % et 5 cc. NaOH caustique à 10 %. On attend 5 minutes et on complète le volume à 500 cc. avec de l'eau distillée.

On compare ensuite, au colorimètre, la teinte obtenue à la solution type de $\text{Cr}^2 \text{O}^7 \text{K}^2$ en plaçant cette dernière sous une épaisseur de 8 millim.

Voici quelques résultats obtenus :

Avant traitement au noir de sang	Après traitement au noir de sang
1 — 2,30	0,10 soit 4,7 %
2 — 1,45	0,08 soit 5,5 %
3 — 1,87	0,17 soit 9,1 %
4 — 1,62	0,12 soit 7,4 %
5 — 2,23	0,09 soit 4,03 %

Dans nos expériences, le filtrat décoloré possède 4,03 à 9,1 % de la créatinine initiale; c'est dire que la majeure partie a été retenue.

En résumé, nous pouvons donc affirmer que le noir de sang supprime à l'urine, ac. urique, bases xanthiques, créatinine. Maintenant nous comprenons mieux quel intérêt présente, dans une recherche de glucose, un traitement par le noir de sang ou le noir animal. C'est que, tout en éliminant la matière colorante, on supprime à l'urine des corps éminemment réducteurs qui nuisent à la nature d'une réaction bien nette en superposant à celle-ci toute une gamme de teintes dues à des réactions secondaires.

Signalons, en passant que Meillère, dans le *Journal de Pharmacie et Chimie* de 1922, avait déjà montré l'absorption facile des acides biliaires par les précipités formés au sein de l'urine ou même par d'autres produits noir animal, noir œnologique, terre à foulon, permutite, ce qui permet l'isolement des acides biliaires.

Il y aura intérêt à revenir sur cette étude sommaire, et nous espérons plus tard montrer quels bénéfices nouveaux on peut retirer de cette intéressante propriété, tant dans le milieu urinaire qu'au sein des liquides biologiques où les corps de la série urique prennent une place importante.

Conclusions.

I. — La fraction de l'acide urique existant à l'état d'urates n'est pas suffisante pour expliquer la présence de 0 gr. 40 à 0 gr. 50 d'acide urique dans l'urine physiologique, de 2 à 3 gr. dans des urines pathologiques.

II. — Les expériences de précipitation par amorçage et agitation permettent de considérer cet acide, à l'état libre ou à un état voisin de l'état libre.

III. — Dans cette dernière façon de voir, nous n'avons pas pu conclure à l'action favorisante des matières colorantes : ce qui n'exclut pas l'intéressante propriété du noir animal et du noir de sang sur les solutions où l'acide urique préexiste : cet acide est intégralement retenu.

IV. — Les colloïdes sont également insuffisants à expliquer les anomalies de solubilité.

V. — L'hypothèse d'une uréide complexe ne peut être admise officiellement que lorsque la copule aura été isolée : nos expériences nous permettent d'éliminer la présence d'une combinaison (acide urique-hydrate de carbone).

VI. — La propriété absorbante du noir de sang et du noir animal s'exerce à l'égard des urates les plus solubles ; d'où difficulté de récupération de l'acide urique.

Elle s'exerce encore, et presque totalement à l'égard des composés xanthiques et de la créatinine.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
L. HUGOUNENQ

Vu :
LE DOYEN,
JEAN LEPINE.

Vu et permis d'imprimer :
Lyon, le 17 Mai 1924
LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
CAVALIER.
